

Title	VII. 共同利用研究, 2.研究成果, (1)計画研究
Author(s)	
Citation	霊長類研究所年報 = Annual Reports of the Primate Research Institute Kyoto University (2017), 46: 86-94
Issue Date	2017-02-03
URL	http://hdl.handle.net/2433/226126
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

課 題	応 募		採 択	
計画研究	39 件	(113 名)	32 件	(89 名)
一般個人研究	94 件	(208 名)	82 件	(187 名)
一般グループ研究	5 件	(26 名)	5 件	(26 名)
随時募集研究	27 件	(70 名)	26 件	(69 名)
合 計	165 件	(417 名)	145 件	(371 名)

2. 研究成果

(1) 計画研究

A-1 第四紀ニホンザル化石の標本記載と形態分析

西岡佑一郎（大阪大・総合学術博物館） 所内対応者：高井正成

ニホンザルが第四紀の後期更新世から現在にかけて歯や骨の形態が変化したか明らかにするためには、化石標本個々の形態記載および現生種との比較が必要となる。霊長類研究所には、栃木県葛生産標本（顎歯 5 点）、岐阜県熊石洞産標本（頭骨 2 点、顎歯 7 点、体肢骨 3 点）、静岡県岩水寺産標本（顎歯 2 点）、静岡県白岩鉦山産標本（顎歯 1 点）、静岡県谷下採石場産標本（顎歯 4 点）、山口県秋吉台産標本（頭骨 18 点、顎歯 37 点、体肢骨 214 点）、高知県野田の堅穴産標本（頭骨 1 点）、高知県権現の穴産標本（顎歯 1 点）の合計 295 点の化石が所蔵されていることが判明した。また、その他の未報告資料として、滋賀県権現谷の蝶穴産標本（顎歯 8 点、体肢骨 18 点）、高知県猿田洞産標本（顎歯 1 点、体肢骨 8 点）、高知県穴岩の穴産標本（顎歯 1 点）を加え、標本の同定結果と産地・年代情報を整理してデータベース化した。標本の中には、現生ニホンザルよりもやや大型の個体や小型の個体が含まれている。今後、過去と現在のニホンザル間で形態差を定量的に比較し、個体変異、地域的な変異、年代的な変化を解析していく。

A-2 ウイルスベクターを利用した霊長類脳への遺伝子導入と神経回路操作技術の開発

小林和人, 菅原正晃, 伊原寛一郎(福島医大・医), 渡辺雅彦, 内ヶ島基政, 今野幸太郎(北大・院・医学)

所内対応者：高田昌彦

霊長類の高次脳機能の基盤となる脳内メカニズムの解明とゲノム科学との融合のために、複雑な神経回路における情報処理とその調節の機構の理解が必要である。我々は、これまでに、高田教授の研究グループと共同し、マカクザル脳内のニューロンに高頻度な逆行性遺伝子導入を示すウイルスベクター (HiRet/NeuRet ベクター)を開発するとともに、これらのベクターを用いて特定の神経路を切除する遺伝子操作技術を開発した。今回、コモンマーモセットを用いた脳構造と機能のマップ作製の研究を推進するために、HiRet/ NeuRet ベクター技術を応用して経路選択的な神経機能の操作を行うとともに、その基盤となる神経回路構造の解析に取り組む。第一に、マーモセット脳内で効率的な神経機能の操作を目指して、導入遺伝子を効率的に逆行性導入するためのウィルスベクターを選択することを目指した。京都大学霊長類研究所の高田先生および中村先生のグループと共同し、FuG-B2 を利用した HiRet ベクターと FuG-E を利用した NeuRet ベクター（導入遺伝子として GFP あるいは RFP を搭載）をマーモセットの脳内（線条体あるいは大脳皮質）に注入し、いくつかの入力経路（皮質線条体路、視床線条体路、黒質線条体路、皮質皮質路、視床皮質路）への逆行性遺伝子導入の効率を比較した。ベクター注入の 4 週間後に、GFP あるいは RFP に対する抗体を用いた免疫組織化学的手法により発現パターンの解析を行った。線条体へ注入した場合、FuG-E を利用した NeuRet ベクターの場合、FuG-B2 を利用した HiRet ベクターよりも、皮質線条体路、視床線条体路、黒質線条体路のいずれの投射路においても高い逆行性の遺伝子導入効率を示した。皮質に注入した場合には、FuG-E ベクターは皮質皮質路において FuG-B2 ベクターと同程度の導入効率を示したが、視床皮質路へはより高い導入効率を示すことが示された。これらの観察から、FuG-E を利用した NeuRet ベクターはより高い遺伝子導入効率を持つことが示された。また、FuG-E ベクターは、FuG-B2 ベクターよりも数倍高い力価が得られるとともに、注入部位のグリア細胞への遺伝子導入が抑制されているため、組織損傷を軽減できるメリットがあることも確認できた。

A-3 野生と飼育下のサル類における顎骨形態に関する研究

深瀬均（北大・医） 所内対応者：西村剛

本研究では、試料として、島根県・鳥取県・京都府・滋賀県・福井県の集団由来の成体のニホンザル（オス 30 体、メス 26 体）の下顎骨格標本を用いた。これらの試料を野生グループ・飼育導入世代グループ・飼育下 3-4 世代後グループの 3 グループに分け（各グループ、雄雌約 10 体ずつ）、「野生グループは飼育下のグループよりも下顎骨形態は頑丈である」という単純化した作業仮説を検証した。下顎骨計測器およびデジタルノギスを用いた各種外部形態計測の比較結果として、雌雄ともにグループ間に一貫した頑丈性に関わる形態差のパターンは見られなかった。さらに、マイクロ CT スキャナと CT 画像解析ソフトを用いて、下顎骨正中断面形状における骨質面積や断面二次モーメントなどの断面特性値を算出した。比較結果として、雌雄ともにグループ間での有意差は多くの項目において検出されなかった。サンプル数が限られており結論的ではないものの、本研究の予備的な結果は、霊長類研究所の所蔵標本に限った場合、野生と飼育下の顎骨形態には大きな差はみられないことを示唆するものである。また、種間比較を行う際に、野生・飼育下の標本をプールして使用することで結果に大きな影響は与えないことも示唆する。

A-4 MtDNA phylogeography of slow lorises in Vietnam: Conservation and reintroduction program

Hao Luong Van (Center for Rescue and Conservative Organisms, Vietnam) 所内対応者：田中洋之

The slow loris, including two species (*Nycticebus bengalensis* and *N. pygmaeus*) of Vietnam, is the vulnerable species in the IUCN Red List. In Vietnam, they are being overhunted for illegal pet trade, use for meat and materials of illegal traditional medicine. Center for Rescue and Conservative Organisms (CRCO) protects diverse organisms from the illegal trade, including the slow loris, and carry out the reintroduction of them to the wild. Although it is to be desired that such animals would be reintroduced into their original habitat, we don't have the method to get information about it. In order to establish a system that can make clear the original habitat of the protected animals using DNA information, in this study we analyze the mtDNA sequence of the slow loris from known origin of habitat.

I examined 9 *N. bengalensis* and 5 *N. pygmaeus*, which included individuals without information of origin. DNA was extracted from hair samples. Firstly, I sequenced the cytochrome oxidase subunit 1 (COX1) gene of mtDNA and carried out the phylogenetic analysis together with dataset of Somura et al. (2012) to genetically check the species for my morphologically identified specimens. Next, I determined the 1.8 kb region including the whole length of cytochrome b gene and a partial sequence of D-loop, as a marker for analysis of original habitat of the slow loris. To avoid mis-amplifying mitochondria-like sequences integrated in the nuclear genome, I performed the 2 step PCR, consisting of the long accurate (LA-) PCR that amplify the region spanning 9 kb of mtDNA and the second PCR using the LA-PCR product as template to amplify the target region, and then, carried out DNA sequencing. I could sequence the 1.8 kb region for all the samples examined. In *N. bengalensis*, 6-8 base substitutions were detected among 7 individuals from the northwestern region of Vietnam and 4 substitutions were found between 2 individuals from Soc Son Rescue Center, Hanoi (their origins were not known). There were 24-28 substitutions between the sample groups of the northwestern region and Soc Son Rescue Center. These results show that the 1.8 kb region is possible to be a good marker to analyze the origin of locality of *N. bengalensis*. Further study is necessary to accumulate the sequence data from the samples collected widely from their range in Indochina. As to *N. pygmaeus*, more samples should be examined. On the other hand, the utility of COX1 as a marker of species identification would be suspected because the COX1 phylogenetic tree did not clearly separate *N. caucong* from our *N. bengalensis* samples.

A-5 Phylogenetic and population genetic studies for conservation of nonhuman primates in Myanmar

Aye Mi San (Mawlamyine University, Myanmar) 所内対応者：田中洋之

The purpose of the study is to extract phylogeographical information necessary for conservation of Myanmar's nonhuman primates (NHP) by clarifying the phylogenetic relationship among the local populations and the phylogenetic status of Myanmar's NHP within the range of each species. In 2015, the 2nd year of the planned research "International Cooperative Research on Evolution and Conservation of Asian Primates", I examined new 4 populations of Myanmar's endemic subspecies of the long-tailed macaque (*Macaca fascicularis aurea*; *Mfa*), and extended the phylogeographical research to other macaques. The present study is the first report of DNA analysis for inland populations of *Mfa* although the island populations of *Mfa* from southern Myanmar have already been examined (Bunlugsup et al. 2015). Firstly, I sequenced approx. 1200 bp of the whole length of mitochondrial D-loop region for all the individuals from 4 populations of Indian Single Rock Mountain (n=6), Bayin Nyi Cave (n=6), Mt. Zweekabin (n=1), and Kha Yon Cave (n=5). There was no mtDNA variation within each population while mtDNA sequences differed among 4 populations. As Bunlugsup et al. (2015) analyzed the partial sequence of cytochrome b (Cyt b) gene, I sequenced approx. 1.8 kb region that includes the whole length of Cyt b gene and hyper variable segment 1 of D-loop for further comparison. Similarly, I sequenced the 1.8 kb region for 3 individuals of *M. leonina* and one *M. arctoides* from Ye, Mon State and carried out phylogenetic analysis. The 3 sequence data of *leonina* obtained here was analyzed with another 7 data of *leonina* from different area in Myanmar. The result indicated that Myanmar's *M. leonina* separated into at least 3 haplogroups; the first one formed a cluster with the Bangladesh sample, the second was related to the Thai South haplogroup, and the third was included in the cluster of Thai North and *M. silenus*. As to *M. arctoides*, more samples should be collected and examined in order to elucidate the phylogeography of the species in Myanmar.

A-7 行動制御に関わる高次脳機能の解明に向けた神経ネットワークの解析

星英司, 石田裕昭 (東京都医学総合研究所・前頭葉機能プロジェクト) 所内対応者：高田昌彦

高次運動野が大腦基底核や小脳と形成するネットワークは動作の企画や実行において重要な役割を果たすが、そのメカニズムは依然として不明である。そこで、本研究ではこのネットワークの構造的基盤を明らかとすることを目指して実施された。シナプスを越えて逆行性に伝播する性質がある狂犬病ウイルスをトレーサーとして用いることにより、複数のシナプスをまたいだネットワーク構築を解剖学的に解析することを行った。本年度は、採餌行動において重要な把持動作と摂食動作の企画と実行の過程で中心的な役割を果たす運動前野腹側部 (PMv) のネットワークに注目した。PMv に狂犬病ウイルスを微量注入し、ウイルスの伝播を大腦基底核内で解析することにより、PMv へ越シナプス性に投射する大腦基底核細胞の分布を解析した。その結果、大腦基底核の高次運動野領域に加えて、一次運動野領域と辺縁系領域の細胞が PMv へ投射することが明らかとなった。以上の結果は、PMv が把持動作と摂食動作を企画する過程において、辺縁系から対象物の価値に関する情報や行動の動機付けに関する情報を受け取る可能性を示唆した。さらに、運動実行時には動作に関する情報を一次運動野領域から受け取ることを示唆した。

A-8 遺伝子発現の生体内可視化と脳機能制御技術の確立

南本敬史, 堀由紀子, 菊池瑛理佳, 平林敏行, 藤本淳 (放射線医学総合研究所) 所内対応者：高田昌彦

本研究課題において、独自の技術である DREADD 受容体の生体 PET イメージング法と所内対応者である高田らが有する霊長類のウイルスベクター開発技術を組み合わせることで、マカサルの特設神経回路をターゲットとした化学遺伝学的操作の実現可能性を飛躍的に高めること目指した。H27 年度は組織化学的に検証を可能とする目的で、蛍光タグを共発現する複数の DREADD 発現ウイルスベクターを開発し、マカサル脳に注入し発現レベルを PET で確認するとともに、

機能性を行動やイメージングを用いて評価することで、最適な DREADD 発現ウイルスベクターをスクリーニングできる実験系を確立した。今後、霊長類脳機能を解明するうえで、より汎用性の高いウイルスベクターの開発につなげる。

A-9 意欲が運動制御を支える因果律の解明

西村幸男, 鈴木迪諒 (生理研・認知行動) 所内対応者: 高田昌彦

我々の研究グループは、意欲が身体の運動制御を可能にする神経基盤を明らかにするために、意欲の生成に関与するとされる腹側被蓋野・黒質を電気刺激し、誘発される脳活動、筋活動を記録することを行ってきた。その結果、腹側被蓋野・黒質への電気刺激によって一次運動野の活動、さらには筋活動が誘発されることを見出した。この電気生理学的手法により得られた結果は、腹側被蓋野が運動性下行路の興奮性を制御している可能性を示唆している。そこで、腹側被蓋野・黒質が脊髄運動ニューロンを制御する解剖学的神経回路の存在を検証することを本研究の目的とした。腹側被蓋野から脊髄へ直接投射する経路が存在しないことは先行研究などから想定されたため、経シナプス的な投射を検討することにした。2頭のマカクザルの脊髄頸膨大レベルで脊髄前角に逆行性経シナプストレーサーである狂犬病ウイルスを注入した。一定のウイルス生存期間(84-90時間)後に灌流固定し、中脳ドーパミンニューロンが豊富に存在する中脳腹側領域の染色ニューロンの分布を検証した。染色されたニューロンは腹側被蓋野だけでなく、黒質や赤核後部といったドーパミンニューロンが豊富に存在する領域にも同様に確認された。これにより、腹側被蓋野を含む中脳腹側領域が脊髄に対し経シナプスの投射をもっており、筋活動の制御に関与する神経経路の存在を解剖学的に証明することができた。

A-10 チンパンジーとヒトにおける大域的な視覚情報処理に関する比較認知研究

伊村知子 (新潟国際情報大・情報文化) 所内対応者: 友永雅己

チンパンジーとヒトの比較認知研究から、運動や形態の情報を統合して大域的に処理する能力は、ヒトの方が優れている可能性が示唆されてきた。一方、近年の研究から、ヒトの視覚システムは、網膜像の統計的な規則性を利用することで、場面全体の複数の物体の色や形、大きさなどの特徴の「平均」を抽出することが明らかにされてきた。しかしながら、このような大域的な情報を圧縮するメカニズムについての種間比較はおこなわれていない。そこで、チンパンジー7個体とヒト20名を対象に、複数の物体の大きさの「平均」に関する情報処理の進化的基盤について検討した。実験では、灰色背景上に1個または12個の白い円から構成されたパターンが左右に2つ、1000ms呈示された。2つのうち、円の平均の大きさが大きい方のパターンを選択すれば正解とした。12個の同じ大きさの円(Homo条件)、12個の異なる大きさの円(Hetero条件)、1個の円(Single条件)から成るパターンの3条件で、正答率を比較した。その結果、ヒト、チンパンジーともに、Single条件よりもHomo条件、Hetero条件の正答率の方が有意に高かった。この結果は、チンパンジーも、複数の物体の平均の大きさを知覚することを示唆するものである。

A-11 ゲノムによる霊長類における脳機能の多様性の解明

橋本亮太 (大阪大・院・連合小児発達学研究所), 安田由華 (大阪大・医), 山森英長 (大阪大・院・医)

所内対応者: 今井啓雄

精神神経疾患は、その原因や病態が不明であり、病態を解明し創薬のためのモデル系を確立することが求められている。サルにおけるモデル系を創出するために必須な精神疾患研究について以下の成果を得た。

COCOROで収集した統合失調症884例と健常者1680例のMRIT1強調画像データを用いて、大脳皮質下領域構造の体積をFreeSurferを用いて解析してその違いを検討した。統合失調症で、両側の海馬、扁桃核、視床、側坐核、頭蓋内容積の体積減少、および両側の尾状核、被殻、淡蒼球、側脳室の体積増加を認めた。また統合失調症における淡蒼球の体積増加は、左側が右側に比して有意に大きかった。淡蒼球は、強調運動や報酬系に関連する部位と言われており、前頭葉との回路が報告されている。淡蒼球の左側優位の体積増加は、統合失調症における神経回路やコネクティビティの側性の異常を示唆する。

トリオ解析においては、自閉スペクトラム症30症例のエクソーム解析を行い、37遺伝子における新規変異を同定し、そのうち14遺伝子について神経突起伸長に対する影響をNeuro2a細胞にて検討すると、8遺伝子にて異常が見出されたため、自閉スペクトラム症遺伝子は神経突起発達に関与すると考えられた。このようにして見出された遺伝子について、サルに対して遺伝子改変を行うことにより、精神疾患のモデルを構築できるだけでなく、霊長類脳の多様性の解明にも役立つと考えられる。

A-12 Ecological and phylogeographical study on Assamese macaques in Bhutan

Tshewang Norbu (Renewable Natural Resources Research and Development Centre, Yusipang, Department of Forest and Park Services, Ministry of Agriculture and Forests, Royal Government of Bhutan) 所内対応者: 川本芳

I have collaborated with Japanese primatologists, including the counterpart of this cooperative research program, in a government program for mitigation of agricultural damages and initiated a basic biological study on human-monkey conflicts in Bhutan. The aim of this cooperative research program was to learn the field and laboratory techniques that are commonly used in ecological and phylogeographical studies of the Japanese macaque in order to apply them for the basic research on the Assamese macaques (*Macaca assamensis*) in Bhutan. I visited a few spots of monkey habitats in Japan to learn the electric fencing system for the damage control. Methods of phylogeny assessment and genetic monitoring of populations were introduced by the counterpart then we discussed the plan for future population study of the Assamese macaque in Bhutan. I examined fecal samples to confirm the protocols of DNA extraction and PCR amplifications for sexing and mtDNA sequencing. The techniques and methods in fecal DNA analysis were transferred to Bhutan where animal genetics laboratory was recently established in a government institution. The taxonomy and evolutionary status of the Assamese macaque in Bhutan is controversial due to recent revision by discoveries of related new species

in the neighboring countries of India (Arunachal Pradesh) and China (Tibet). I will continue field observation and sampling to apply the obtained knowledge to conduct ecological and phylogeographical study in Bhutan.

A-13 脳機能におよぼす腸内細菌叢の影響

福田真嗣, 福田紀子 (慶大・先端生命研), 村上慎之介, 石井千晴(慶大・院・政策メディア), 伊藤優太郎(慶大・総合政策), 谷垣龍哉(慶大・環境情報) 所内対応者: 中村克樹

ヒトを含む動物の腸内には、数百種類以上でおよそ 100 兆個もの腸内細菌が生息しており、宿主腸管と緊密に相互作用することで、宿主の生体応答に様々な影響を及ぼしていることが知られている。近年マウスを用いた研究で、腸内細菌叢が脳の海馬や扁桃体における脳由来神経栄養因子 (BDNF) の産生量に大きな変動を与え、その結果マウスの行動にも変化が現れることが報告された (Heijtz, et al., PNAS, 108:3047, 2011)。これは迷走神経を介した脳腸相関に起因するものであることが示唆されているため、腸内細菌叢の組成が宿主の脳機能、特に情動反応や記憶力に影響することが示唆される。しかしながら、これら情動反応や記憶力と腸内細菌叢との関係を調べるには、マウスなどのげっ歯類では限界があると考えられたことから、本研究では小型霊長類であるコモンマーマモセットに着目し、高次脳機能、特に情動反応や記憶力と腸内細菌叢との関係について解析を行うことを目的とした。腸内細菌叢を除去したコモンマーマモセットモデルを構築するため、平成 27 年度は高次脳機能評価を行うための課題訓練を実施した。2 頭のコモンマーマモセットに図形弁別課題およびその逆転学習課題を訓練した。さらに、記憶機能を検討するため空間位置記憶課題も訓練した。次年度には腸内細菌叢と認知課題の成績との関係を検討する予定である。

A-14 大脳一小脳—基底核連関の構築に関する神経解剖学的研究

南部篤, 畑中伸彦, 知見聡美, 金子将也, 佐野裕美, 長谷川拓 (生理研・生体システム) 所内対応者: 高田昌彦

新世界サルであるマーマモセットは、遺伝子改変動物の作製に適しているなど今後の実験動物として期待されている。しかし、その神経解剖学的、神経生理学的知見は十分に蓄積されているとは言い難い。そこで本研究では、マーマモセットの大脳皮質運動野を中心とした線維連絡を調べることにした。

マーマモセット大脳皮質には脳溝などのランドマークが乏しく、領野の同定には機能マッピングが必須である。マーマモセットの頭部を覚醒下で無痛的に固定し、皮質内微小電気刺激 (ICMS)、神経活動記録を用いて、大脳皮質運動野を中心として機能マッピングを行った。その結果、以下のように各領野が同定できた。

一次運動野 (M1): 10 μ A 前後の微弱な ICMS で運動を誘発することができる領域が同定され、M1 と考えられる。また、内側から外側にかけて下肢、上肢、口腔・顔面領域と明瞭な体部位局在が認められた。

一次体性感覚野: M1 の後方に ICMS の閾値が高く、また深部感覚に応ずる領域が同定された。これは 3a 野に相当するものと思われる。より後方は、皮膚などの体表から入力を受け、ICMS ではほとんど運動を誘発できない領域が広がっており、3b 野に相当すると考えられる。

運動前野 (PM)、補足運動野 (SMA): M1 の前方は、ICMS の閾値が高い領域が広がっており、体性感覚入力の同定も難しかった。この領域は PM に相当すると考えられる。また、PM の内側にも、後方から下肢、上肢の領域が同定でき SMA と考えられる。

大脳皮質間、大脳皮質-脳深部間の線維連絡を調べるために、これらの領域に神経レーザーを注入したので、今後、解析を行う予定である。

A-15 認知機能と行動制御における外側手綱核の役割

松本正幸, 川合隆嗣 (筑波大・医), 佐藤暢哉 (関西学院大・文) 所内対応者: 高田昌彦

外側手綱核と前部帯状皮質は罰に関連した神経シグナルを伝達する脳領域である。本研究ではこれまで、それぞれのシグナルが脳内の学習プロセスに果たす役割を検討するため、マカクザル (ニホンザルとアカゲザル) を用いた電気生理学的研究を実施し、外側手綱核と前部帯状皮質の神経活動を記録・比較する実験をおこなってきた。そして、外側手綱核のニューロンが現在生じている嫌悪刺激を素早く検出しているのに対して、前部帯状皮質のニューロンは過去に生じた嫌悪刺激を記憶し、サルの行動を切り替えるためのシグナルを伝達していることが明らかになった。特に平成 27 年度は、前部帯状皮質局所回路の中で、興奮性の錐体ニューロンと抑制性の介在ニューロンの情報表現について研究を進め、錐体ニューロンよりも、介在ニューロンの方が嫌悪刺激の記憶情報や行動切り替えのためのシグナルをより伝達していることが明らかになった。これは、前部帯状皮質内部での情報処理プロセスを考える上で重要な知見となる。

A-16 複数骨格筋への単シナプス性発散投射構造の解剖学的同定

関和彦, 大屋知徹, 梅田達也 (国立精神・神経セ モデル動物) 所内対応者: 高田昌彦

脊髄運動ニューロンに投射する Premotor neuron は大脳皮質、脳幹、脊髄にそれぞれ偏在し、最近の申請者らの電気生理学的実験によって Premotor neuron の複数筋への機能的結合様式が筋活動の機能的モジュール (筋シナジー) を構成することが明らかになってきた。この神経解剖学的実体については全く明らかにされておらず、ヒトの運動制御の理解の発展と、運動失調に関わる筋、神経疾患の病態理解や新しい治療法の開発のためには喫緊の研究課題である。そこで本研究では上肢筋の脊髄運動ニューロンへ投射する細胞 (Premotor neuron) の起始核である脊髄、赤核、大脳皮質からの発散性支配様式を解剖学的に明らかにすることによって、霊長類における巧緻性に関わる皮質脊髄路の脊髄運動ニューロンへの直接投射の機能的意義を解剖学的観点から検討する。

本年度は前年度行なった注入結果をもとに、新たなウィルスベクターの開発を継続して行なった。また、国立精神・神経医療研究センターにおいて、霊長類研究所から供給を受けた AAV ベクターの機能評価をマーマモセットを対象に行なった。

A-17 二卵性ふたごチンパンジーの行動発達に関する比較発達研究

岸本健（聖心女子大・文）、安藤寿康（慶應義塾大・文）、多々良成紀（のいち動物公園）、山田信宏（のいち動物公園）
所内対応者：友永雅己

高知県立のいち動物公園のチンパンジー集団では、2009年に1組の二卵性の雌雄の双子が誕生し、母親による養育が現在まで継続している。この集団では、母親以外のおとなが、2歳齢時の双子の女兒に対し、背中に乗せて移動するなどの世話行動をとっていたことが確認されている (Kishimoto et al., 2014)。一方で、母親以外のおとなによる双子への世話行動が、双子の発達に伴ってどのように変化するかについては明らかになっていない。そこで、双子が2歳齢であった2011年から、6歳齢にいたった2015年（写真）までの4年間における、母親を含むおとなと、双子との近接関係を分析し、双子とおとなたちとの関係性が、双子の発達に伴いどのように変化したか検討した。分析の結果、母親以外のおとなで、双子の女兒を世話していた個体と双子の女兒との近接率は、2歳齢時には母親と同程度だったが、双子の発達とともに大きく減少した。一方、双子の女兒と母親との近接率もまた、双子の女兒の発達とともに減少したが、母親以外のおとなとの近接率と比較して減少が緩やかだった。この結果は、母親以外のおとなによる双子への世話行動が、双子の月齢が低く、母親による子育ての大変な時期に限定的に生じる可能性を示唆する。

A-18 成体脳神経新生の in vivo 動態解析技術の創出

植木孝俊（名古屋市大・院・医・統合解剖学）、尾内康臣、間賀田泰寛（浜松医科大・光先端医学教育研究センター）、小川美香子（北大・院・薬学）、岡戸晴生（東京都医学総合研・脳発達神経再生・神経細胞）、井上浩一（名古屋市立大・院・医・統合解剖学）
所内対応者：高田昌彦

近年、ヒトを含む哺乳動物の脳で、成長後にもニューロンの新生が継続していることが確認されている。これまで成体脳神経新生の解析は、専らマウス、ラットなどのげっ歯類で行われ、ヒト、マカクザルなどの高等霊長類成体脳における神経幹細胞の動態解析、並びに、その生理学的機能の探究はほとんどなされていない。

ここでは、レンチウイルスにて中性アミノ酸トランスポータータンパク質を神経幹細胞で選択的に発現させ、*O*-¹⁸F-fluoromethyltyrosine ([¹⁸F]FMT) で標識した後、PETにより神経幹細胞を in vivo で描出する。初めに、ラットで成体脳神経新生動態の PET イメージングと神経幹細胞障害モデルの作出を行い、28年度以降のマカクザルにおける脳内神経幹細胞の動態描出と生理学的機能探究への応用を図ることとした。

成体脳神経新生動態の PET イメージングに当たっては、ラットにてレンチウイルスにより神経幹細胞特異的に中性アミノ酸トランスポーター/共役因子遺伝子を発現させ、[¹⁸F]FMT の集積を PET で画像化した。ここでは併せてマウスに強制水泳試験を課し作製した大うつ病病態モデルで、成体脳神経新生動態を PET により描出し、神経新生障害が大うつ病病態生理に与えることを確認した。また、成体脳神経新生障害モデルの作出に当たっては、レンチウイルスをラットの脳室下帯もしくは海馬歯状回に感染させ、HSV1-sr39tk 遺伝子の発現を誘導した後、ガンシクロビルを腹腔投与することにより、各 neurogenic niche における成体脳神経新生を障害した。そして、その認知、記憶などへの影響を種々の行動学的解析により評価した。さらに HSV1-sr39tk 発現神経幹細胞を 8-[¹⁸F]fluoropenciclovir (FPCV) を用いて PET で画像化し、その神経新生動態解析への応用の可能性を検討した。

A-19 チンパンジー母乳における生物活性因子と子供の成長との関係性

岡本早苗（マーストリヒト大）、Robin M. Berstein(コロラド大・ボウルダー校・人類学)、Katie Hinde (アリゾナ州立大・人間進化・進化医学センター)
所内対応者：林美里

本研究は現在も継続中であり、28年度も引き続き、共同利用研究として継続希望が採択されている。本研究では2000年から数年に渡り思考言語分野において採取、冷凍保存されていたチンパンジーの母乳サンプルを調べることににより、ヒトとチンパンジーにおける代謝および免疫に関係する因子の比較をおこなう。またチンパンジーの授乳期間が長いことから、母乳中の因子と乳児の発達との関係性を調べる。さらに同様に採取された母子の糞尿サンプルもあわせて調べることににより、乳児の発達に伴った母子の生理学的変化を総合的に検討する。26年度に母乳サンプル輸出について、ワシントン条約に基づいた CITES 手続きのためチンパンジー3個体各々の書類準備をおこなったが、個体履歴等の証明書類の完備が困難で手続きが長期化することが予想された。そのため、コロラド大学の研究協力者が来日して所内の実験室において、分析をおこなう方針に変更した。しかし、当初予定していた分析試薬の国内入手が困難であることが判明した。そこで27年度から新たに参加した研究協力者が異なる分析キットを用いて母乳の分析を開始する予定であったが、当人の所属異動（ハーバード大学からアリゾナ州立大学）に伴い来日しての分析を行うことが困難になったために、28年度に分析施行を予定している。27年度は、母乳サンプルの冷凍保管方法を更新するとともに、貴重な母乳サンプルを実際に利用するときに、他の成分分析にも多重利用が可能かどうかについて、所内の研究者らと検討をおこなった。

A-20 飼育下チンパンジーにおける炭素・窒素安定同位体分析

葛谷匠（京都大・院・理）
所内対応者：宮部貴子

食物と体組織・排泄物のあいだの同位体比の差分を検討するため、霊長類研究所内に飼育されている13個体のチンパンジーを対象に、試料採取と同位体分析を実施した。炭素・窒素安定同位体分析は食生態の復元に用いられる手法であるが、野生動物の摂取食物を推定するためには、あらかじめ実験条件下で、食物と体組織・排泄物のあいだの同位体比の差分を算出しておかなければならない。

本研究では、2015年6月および2016年2月に実施されたチンパンジーの食事調査にあわせて、すべての採食品目、全個体の毛、アド・リブで得られた糞尿について、分析試料を採取し、6月の試料については炭素・窒素安定同位体分析を終わらせた。現在、データ解析を進めており、ここまでの結果について、2016年度中の論文化を目指している。

今までのところ、食物と毛の差分はヒトの場合と同様の値が得られている。尿については、同位体比や元素濃度が試料ごとにばらつく傾向があり、数日から数週程度の、短期間の栄養状態の変動を反映している可能性がある。

A-21 Decoding Global Networks in Tourettism using PET and Electrophysiological methodologies

Kevin W. McCairn Ph.D. (Korea Brain Research Institute), Masaki Isoda (Kansai Medical University) 所内対応者：高田昌彦

Objectives

Tourette syndrome (TS) is a childhood onset neurological disorder which manifests motor and vocal tics. Using a nonhuman primate model (NHP) of TS, the aim of this study was two-fold: (1) to quantify the behavioral effects of limbic (vocal tic) relative to sensorimotor (myoclonic tic) network striatal disinhibition; (2) to determine how differences in cortico-basal ganglia-thalamic (CBTC) and cerebella (Cb) activity, as assessed through PET imaging, single unit and LFP recording differentiate abnormal behavioral profiles.

Primary scientific findings

In order to disrupt physiological activity in the limbic and sensorimotor networks, we injected a small amount of the GABA antagonist bicuculline into the nucleus accumbens (NAc) (limbic) or the putamen (sensorimotor) in two monkeys, adding to a database of three other animals. Our injection protocol for the NAc successfully evoked repetitive vocalizations in all animals. The sound of their frequency spectrum is best described as a ‘grunt’. The site that caused vocal tics was consistently localized in the NAc across all the monkeys, i.e., approximately 4 mm rostral to the anterior commissure. To elicit motor tics, the bicuculline injections had to be placed in the dorsolateral sensorimotor putamen, caudal to the anterior commissure. In such cases where repetitive tics occurred in the orofacial region and/or the arm region, no vocal tics were ever observed. The localization of vocal tics to the NAc supports the premise that vocal tics emerge as a consequence of limbic network dysrhythmia.

Our next step was to identify more globally which brain regions were activated following disinhibition of the NAc. We found that regional cerebral blood flow (rCBF) significantly increased in the ACC, amygdala, and hippocampus, bilaterally (T value > 3.37, uncorrected $p < 0.001$; Figure 1). This activation pattern was unique to the vocal tic model; in the motor tic model, significant increases in rCBF were observed in the M1 on the side ipsilateral to the injection site and in the cerebellum on the contralateral side (Figure 1). The contrasting activation profile was best captured by a direct comparison of rCBF between the two tic models. The ACC, amygdala, and hippocampus were each activated significantly more strongly in the vocal tic model than in the motor tic model (T value > 5.47, corrected $p < 0.05$) (Figure. 1). By contrast, M1 and the cerebellum were activated significantly more strongly in the motor tic model (T value > 5.47, corrected $p < 0.05$).

Major scientific achievements

We are pleased to report that on the strength of the already acquired data (supported by the PRI collaborative grant), that we have submitted and published the PET imaging and LFP data regarding vocal tics to the scientific journal *Neuron*. The manuscript “*A primary role for nucleus accumbens and related limbic network in vocal tics*” was accepted for publication and released into the public domain in January 2016.

A-22 マカクザルにおける出産様式に関する形態学的研究

森本直記（京都大・理・自然人類学研究室） 所内対応者：西村剛

ヒトにおける出産様式の進化に関する研究は、脳機能・歩行様式・生活史が関わる多面的な課題である。しかし、出産進化のメカニズムにおいて鍵となる新生児と骨盤の化石記録が乏しく、直接的な検証が極めて困難である。そのため、現生の霊長類をモデルとした研究が不可欠である。本共同研究では、マカクをモデルとし、出産メカニズムに関する生体データを取得・解析することを目的とした。アカゲザルとニホンザルをそれぞれ3組ずつに対しX線CT撮像を行い、母親と胎児の3次元データを取得した。予備的な結果にとどまるものの、計算機内で出産のシミュレーションを行い、マカクでは吻部が先に出てくる、つまりヒトとは異なる回転を行いながら胎児は産道を通ることが確認された。また、母親の骨盤形態と胎児の頭蓋骨形態の相関を統計的に検証する手法を検討中である。

A-26 Molecular classification of the grey langur and purple-faced langur in Sri Lanka

Charmalie AD Nahallage (University of Sri Jayawardenepura) 所内対応者：Michael A. Huffman

The evolution of langurs and macaques in southern Asia is a topic of growing interest, and Sri Lanka is an important but understudied piece of this puzzle. Sri Lanka, situated southeast of India with a geological history of being connected to the sub-continent several times, is classified as one of the world biodiversity hot spots in terms of species, genetic, ecosystem, and geographical diversity. The three sub-species of the endemic toque macaque (TM), the four sub-species of the endemic purple-faced langur (PFL), and the Hanuman or grey langur (GL), a species found across the Indian subcontinent, are distributed across the diverse mosaic of climatic and ecological zones of Sri Lanka. We previously reported a disparity between the phenotypic and mtDNA diversity of toque macaques, whereby all three purported subspecies came under two major mtDNA haplogroups, segregated roughly into two different major elevation zones; mountainous and coastal regions. In this study we present preliminary results on the phylogeography of GL samples. Eighty-two Sri Lankan GL samples (64 feces, 20 blood) originating from 22 different populations across the species' distribution were analyzed. DNA was extracted and the successfully amplified PCR product was sequenced for cytb and D-loop. GL clustered mainly into one large cluster, with 4 minor clusters. Further analysis and sample collection will be necessary before coming to firm conclusions, but PFL clustered with GL into the same haplotype in one small cluster where they live sympatrically, suggesting local hybridization.

A-27 ニホンザル大臼歯形態における地理的変異とその適応的要因の解明

浅原正和（三重大学教養教育機構） 所内対応者：高井正成

ニホンザル大白歯の形態における地理的変異を調査するため、霊長類研究所に収蔵されている各地のニホンザルの大白歯を計測した。また、得られたデータと各地の気候データとを比較し、大白歯の形態に影響する適応的要因を明らかにすることを試みた。得られたデータのうち、下顎大白歯の近遠心径・頬舌径から歯の咬合面のサイズを計算し、第一大臼歯、第二大臼歯、第三大臼歯それぞれの相対的な咬合面のサイズ（以下、大白歯相対サイズと称する）を地域間で比較した。その結果、年平均気温の低い地域では3つの臼歯のうち第一大臼歯が相対的に大きいのに対し、年平均気温が高い地域では3つの臼歯のうち第三大臼歯が相対的に大きいという傾向がみられた。このような大白歯相対サイズの地理的変異は食肉目タヌキなどで知られているが、ニホンザルの場合は食肉目であるタヌキと異なり、大白歯列中に明瞭な機能分化が見られない。このことから、ニホンザルの大白歯相対サイズの地理的変異は、まだ歯列が完成していない若齢期において咀嚼能力を強化することで生存確率を上昇させるといった、より寒冷で厳しい環境に対応するための成長パターンの適応ではないかと予測された。

A-28 霊長類の皮質－基底核－視床ループの形態学的解析

藤山文乃、苅部冬紀、高橋晋、中野泰岳、水谷和子、呉胤美（同志社大学） 所内対応者：高田昌彦

中枢神経系の作動原理を理解するためには、その構造的基盤である局所神経回路の知識が不可欠である。従来、霊長類、特に皮質－基底核－視床回路においては齧歯類と霊長類の体部位特異性の違いなど機能面の比較が困難であった。本研究課題では、霊長類を用いて古典的なトレーサやウイルスベクタを注入することで、齧歯類および霊長類の神経経路を詳細に比較することを目的としている。

昨年度は齧歯類を用いて、膜移行性シグナルをつけたウイルスベクタによる視床線条体投射の単一ニューロントレースを行った。その結果、束傍核はマトリックスに優位に、正中核群からはストリオソーム優位に、束傍核以外の髄板内核群からはストリオソームとマトリックスに同程度の投射があることが明らかになった。さらに、ストリオソームやマトリックスに特異的に投射する視床亜核の脳皮質への投射先は、その視床亜核が投射している線条体のコンパートメントに優位に投射している皮質領域であることがわかった。つまり、線条体のストリオソーム・マトリックス構造は、視床と脳皮質から、時間差で同質の情報を受け取っている可能性があることが示唆された。

今後は霊長類のサンプルを用いて、動物種による比較形態学解析を行い、種を超えて運動に基本的に必要な回路の抽出を目指したい。

A-29 ニホンザル手指および足指先天的形態異常の肉眼解剖学的研究

小島龍平（埼玉医大・保健医療・理学療法） 所内対応者：濱田穰

肉眼解剖学においては、変異を詳細に観察することにより形態形成の過程やその背景にある法則や原則についての手がかりを得ようとする。先天的形態異常は発生において標準とは異なったイベントや要因が生じ、そのタイミングで起こるべき正常の発生過程やその後の発生過程が障害、修飾されて生じると考えられる。このような形態異常も広い意味で変異の一部と考え、詳細に観察し所見を整理することにより形態形成について考察する手がかりを与えてくれると考える。ここでは、左右の手および足に先天的形態異常を有するニホンザル1頭の前肢1側の所見を報告する。標本は淡路島より霊長類研究所に導入された雄の個体で年齢不詳、死亡時体重7.5kgである。1) 対象手の指は2本であり、裂手症に相当する形態異常であると考えられた。2) 対象肢においては肩胛～上腕、肘関節周囲においては骨格、筋、末梢神経の構成や形態に異常は認められなかった。しかし、前腕遠位部の骨格構成や形態に異常が認められた。3) 前腕においては屈側で12個の、伸側で13個の筋が区別できた。これらの筋について浅深の層構成、同一層での内側外側方向での配列、起始、停止、神経支配の特徴から標準的な構成における筋との対応関係について同定を試みた。4) 屈筋においても伸筋においても、上腕骨から起こり前腕近位部に停止する筋は容易に同定できた。また、前腕遠位部および手根に停止する筋についても相当する筋を推定することは可能であった。5) しかし、手指に停止する筋には乱れがあり、標準的な筋構成との対比が困難な筋が多く認められた。6) 前腕における末梢神経の構成や走行分岐パターンは標準的な形態に近いと思われた。7) 手においては短掌筋と思われる筋の他には筋は認められなかった。9) 手指の形態異常を起こさせる要因が生じた時期には、前肢の近位部（肘周辺まで）はすでに形成をされており、前腕の筋の原基も数としては形成をされていたが、停止となる手根や指の形成に異常が生じ、それらに停止すべき筋の形成に大きな乱れが生じたものと推測する。

A-30 オランウータン歯牙形状と採食生態をつなげる

河野礼子、久世濃子（科博・人類） 所内対応者：高井正成

代表の河野は、国立科学博物館動物研究部が所蔵する現生オランウータン資料について、状態のよい大白歯をマイクロCT撮影した。また、中国産オランウータン化石大白歯約300点についてもマイクロCT撮影とレプリカ作製を実施した。さらに、マレーシアのマラヤ大学動物学博物館を訪問し、現生オランウータン資料を観察して、レプリカを作製した。レプリカ資料については三次元レーザースキャナーによるデータを一部採取し、これらのデータをもとに、形状特徴の計測項目について吟味し、食性との対応関係を検討する方向性を探った。協力者の久世は、現生オランウータンの採食生態についてより詳細な情報を得るために、ボルネオ島マレーシア領サバ州のダナム・バレイ森林保護区内の調査地で2005年～2014年に収集した、果実生産量とオランウータンの食性・繁殖に関するデータを月毎に分析した。その結果、2010年7～9月の大規模一斉結実期に、採食時間に占める果実の割合が90%に達し、6頭中4頭の雌がこの時期に妊娠していたことが明らかになった。また、果実生産量が低く、採食時間に占める果実の割合が小さい時期には、妊娠した雌はいなかった。この結果を、2015年3月に犬山市で開催された第6回動物園大学にてポスター発表した。

A-31 チンパンジーの比較解剖学—乳様突起部と股関節を中心に—

滝澤恵美（茨医療大・保健）、矢野航（朝日大学・歯）、長岡朋人（聖マリアンナ医大・医） 所内対応者:西村剛

1) 頭頸部の比較解剖成果（成果画像あり）

Chimpanzee #8745 の側頸部~顔面を解剖した。耳下腺神経叢からの枝の間にヒトより多い吻合を認めた。また咬筋の前での吻合が認められた。顔面静脈と顎静脈（翼突筋静脈叢は認められなかった）が咬筋の前部で吻合していた。顎二腹筋は喉頭摘出により舌骨付近で切断されているが、切断面に中間腱の痕跡が認められなかった。次に、頭頸部周囲の解剖所見として、C3 から分岐するもっとも大きな枝は大耳介神経と頸横神経であった。また、C3 から出るほかの枝は鎖骨上神経（中間枝）を構成する2枝、そして鎖骨上神経（後枝）であり、C4 から分岐する枝は、C3 由来の鎖骨上神経（後枝）と吻合する枝、鎖骨上神経（前枝）、そして横隔神経であった。

2) 股関節の比較解剖成果

ヒトとチンパンジー間で股関節筋の機能比較をするにあたり、まず三次元的な関節運動範囲を確認するためにデータ収集を行った。チンパンジー1 個体の股関節を膨出して他動的に大腿部を動かし、デジタルビデオカメラで骨盤および大腿部を撮影した。撮影動画データの身体分析点を用いて関節の可動範囲を分析するために、本年度はデータ収集と画像データの歪み補正作業のための技術開発を進めた。

A-32 霊長類における音声コミュニケーションの進化および発達過程の研究

山下友子,平松千尋,上田和夫,中島祥好,杉野強（九州大） 所内対応者:友永雅己

霊長類における音声コミュニケーションは、種の特異性やヒト言語との連続性という観点からよく研究されている。これまでの研究により、発声方法や発声器官には、ヒトと他の種との共通性や、種の特異性があることが指摘されている。2014 年度以来の共同利用研究において、モンキーセンターにてテナガザル類3種、ワオキツネザル、ヤクニホンザル、リスザルの音声、また霊長類研究所にてチンパンジーの音声を録音した。明瞭に録音された音声に対し、まずケプストラム分析によって、音声から調波構造の影響を極力減らし、1/2 オクターブ程度の狭帯域フィルター群を用い、各フィルターにおけるパワー変化を量として相関係数行列にもとづいた因子分析を行った。また、霊長類の音声における帯域ごとの相関係数行列について、各霊長類間でユークリッド距離を算出した。ヒト（成人および乳幼児）の音声から得られた因子構造と比較した結果、ヒト以外の霊長類から得た因子構造は、ヒトの因子構造とは異なることが明らかとなり、進化と発達とを共通の尺度で捉える可能性が示された。種の違いによりサイズの違う個体のあいだに共通点を明らかにする必要のあることから上記の多変量解析の方法について今後、数理的手法の改良を進めていく予定である。

A-34 霊長類における概日時計と脳高次機能との連関

清水貴美子,深田吉孝（東大・院・理） 所内対応者：今井啓雄

我々はこれまで、齧歯類を用いて海馬依存性の長期記憶形成効率に概日変動があることを見出し、SCOP という分子が概日時計と記憶を結びつける鍵因子であることを示してきた。本研究では、ヒトにより近い脳構造・回路を持つサルを用いて、SCOP を介した概日時計と記憶との関係を明らかにする。

ニホンザル6頭を用いて、苦い水と普通の水をそれぞれ飲み口の色が異なる2つのボトルにいれ、水の味と飲み口の色の連合学習による記憶効率の時刻依存性を検討した。一回の試験につき各個体あたり、朝／昼／夜の何れかに試験をおこなう。学習から24時間後のテストでは苦みを入れずに、学習時と同じ色の両ボトルに普通の水を入れる。それぞれのボトルの水を飲んだ回数をビデオ観察し、正解と不正解の回数の比により、記憶できているかの判断をおこなった。各時刻一回ずつ6頭の記憶テストデータを解析した結果、夕方よりも、朝や昼に記憶効率がよいという傾向が見られた。しかし、個体差や実験間での差が大きいため、統計的有意差は見られていない。1頭あたりの実験回数を増やすなど、更なるデータ収集が必要である。記憶効率の時刻依存性の確実なデータを得た後に、SCOP shRNA 発現レンチウイルスをもちいた海馬特異的なSCOPの発現抑制により、記憶の時刻依存性に対するSCOPの影響を検討する。

A-35 人類出現期に関わる歯と頭蓋骨の形態進化的研究

諏訪元,佐々木智彦,小藪大輔（東大・総合博）,清水大輔（京大・理） 所内対応者：高井正成

H27 年度は1)チョローラ層の年代層序と動物相の評価、2)歯髓腔を用いた年齢推定法の類人猿への応用、および3)オナガザル類の摩耗小面から顎運動を推定する研究を進めた。チョローラの2015年の調査にて、オナガザル類の化石を若干数新たに発見した。それらの同定を行い、チョローラの哺乳動物相リストを更新し、大型類人猿チョローラピテクスを含む動物相が800万年前のものであることとその動物相の意義についてNature誌に発表した。特に、チョローラではこれまで確認されていなかった*Microcolobus* と類似した種の存在を確認した。また、チョローラのオナガザル類としては、ややサイズが大きく臼歯ノッチが浅いコロブス亜科の種が dominant な種であるが、2015年調査でノッチがより深い臼歯が発見され、新たな系統が存在する可能性が浮かび上がった。この疑問を解決するため、現生コロブスの特にノッチ深さの種内変異を改めて調査することとし、CTデータを取得し、目下析中である。上記研究2)については、類人猿での応用がマクロ的な volume 評価だけではむづかしいことを確認し、今後の方針を検討した。上記研究3)については、現生のオナガザル類の方法を改善し、その結果を学会発表した。

A-36 The genetic profile of Taiwanese macaque groups

Hsiu-hui Su（Institute of Wildlife Conservation, National Pingtung University of Science and Technology, Taiwan）

所内対応者：川本芳

This study was aimed to verify markers that can be applied to the genotyping of microsatellite DNA in the fecal samples collected from a Taiwanese macaque population located in southern Taiwan. A total of 16 microsatellite markers that have been tested on the Taiwanese macaque population in Oshima were chosen for the study. Among the 16 markers, 10 markers resulted in detectable polymorphism on the loci. The fecal samples used in the microsatellite genotyping were first screened by the *c-myc* test for the DNA quality. The HVR I of mtDNA was also sequenced and the result showed that the haplotype (740 bp) of two neighboring groups were different from each other by 31 bp of substitutions in this provisioned region. The 10 microsatellite markers will be applied to the paternity analysis in the Taiwanese macaque to investigate their reproductive strategies. This non-invasive method to study genetic structures also contributes to the conservation of the Taiwanese macaques in Taiwan by revealing the human impact on translocating macaque groups in the past.

Keywords: microsatellite marker, maternal inheritance, provisioning, translocation, *Macaca cyclopis*.

A-37 Study on phylogeography of macaques and langurs in Nepal

Mukesh Chalise (Central Department of Zoology, Tribhuvan University, Nepal)

所内対応者：川本芳

The trade of DNA samples becomes difficult due to recent ratification and enforcement of international regulation Nagoya Protocol. This trend changed our collaboration in cooperative study on evolution and conservation of non-human primates in Nepal. In this fiscal year program, we start to establish a laboratory in Kathmandu where we can prepare DNA samples from fecal specimens and can perform DNA amplification by standard PCR procedure in order to continue phylogeographical study on macaques and langurs in Nepal. We opened the laboratory in December 2015 and conducted a feasibility study of mtDNA typing for non-human primates for the first time in the country. Firstly, we extracted DNA samples from fecal specimens preserved in lysis buffer based on the protocol developed in the last year program. Both Assamese macaques and grey langurs were examined for partial sequencing of control region, 16S ribosomal RNA and cytochrome b in the mitochondrial DNA genome. Of 26 specimens, consisting of 20 macaques and 6 langurs from 8 localities, 19 were successfully amplified by PCR. We also got good results in sexing with amelogenin primers for 19 samples. Obtained PCR products were sequenced in Japan to confirm the applicability of newly obtained PCR products for sequencing analysis. Our preliminary examination of cytochrome b fragments yielded fine results for four out of six samples of grey langurs. Obtained Nepalese sequences were compared with deposited DNA sequences in database. Nepalese samples formed a single cluster with high bootstrap value and a reported haplotype (N2) from Ramnagar (Karanth et al. 2010) was placed aside of the Nepalese cluster.

(2) 一般個人研究

B-1 Developing a model of cold- and heat-stressed primate thermoregulation from Japanese macaques (*Macaca fuscata*)

Cynthia Thompson (Grand Valley State University), Chris Vinyard (Northeast Ohio Medical University), Susan Williams (Ohio University), Sylvain Perez (Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse)

所内対応者：半谷五郎

This project aims to assess how Japanese macaques (*Macaca fuscata*) utilize behavioral and physiological mechanisms during seasonal thermoregulation. During 2015, we conducted our second research season (summer; winter data collection occurred in 2014) at the Kyoto University Primate Research Institute from July 11-31. During this time we successfully collected data on thermoregulatory variables for five adult animals (n=2 males, n=3 females). We gathered a total of 1,048 observation hours. These behavioral data are currently being used to calculate the effects of temperature, solar radiation, humidity, and wind speed on the time spent moving, body position, and choice of sunny vs. shaded location. During this past data collection season we also collected 94 fecal samples. These were lyophilized, extracted, and assayed via ELISA to determine levels of the thermoregulatory thyroid hormone fT3. We found significantly lower levels of fT3 in the summer compared to the winter (ANCOVA: $F = 41.5$, $p < 0.001$), with summer samples having fT3 levels, on average, 2.87pg/ml lower than winter samples. Additionally, season explained 45.9% of the variance in fT3 levels; for comparison sex explained only 2.2% of the variation in fT3. These results suggest that Japanese macaques significantly boost thyroid hormone levels during the winter, likely to increase basal metabolic rate and generate heat. Since fT3 levels are linked to energy expenditure, lower fT3 levels in the summer likely reflect a strategy to lower not only heat generation, but also to conserve energy. Our results indicate that these animals utilize thyroid hormones, a relatively expensive and longer-term physiological pathway, as a mechanism of seasonal thermoregulation.

B-2 1次視覚野をバイパスする頭頂連合野への視覚入力への解明

中村浩幸 (岐阜大・院・高次神経形態学)

所内対応者：脇田真清

霊長類の高次視覚野へ、1次視覚野を経由しない、短潜時の視覚入力を、形態学的に解明する。本年度は、頭頂連合野へ直接の視覚入力を送る V3A 野への外側膝状体からの投射を研究した。

アカゲザル 1 頭の V3A 野へトレーサーを注入し、外側膝状体層間細胞の逆行性標識を観察した。トレーサー注入に先立って、1mm 間隔のスライスで厚 1mm の頭部 MRI 画像を撮像した。画像を Caret 5 (Van Essen, <http://brainmap.wustl.edu>, 1995)に取り込み、前額断画像の脳表の形状をとレースして、脳表の 3 次元画像を作成し、トレーサー注入用の微小ピペットを垂直に V3A 野に刺入する際の刺入部位を確認した。ファーストブルー (2%)。ディアミディノイエロー (4%)、ビオチン化デキストランアミン (20%) をそれぞれ異なる微小ピペットに充填し、左右の V3A 野を目標に 3 カ所ずつ微量注入した。左の V3A 野には、ファーストブルーとディアミディノイエローが注入されており、白質や LOP 野へは広がっていなかった。右では、ファーストブルーとディアミディノイエローが、V3A 野と LOP 野に注入されていた。逆行性に標識された外側膝状体層間細胞の分布は現在検討中である。

B-3 サル類における聴覚事象関連電位の記録

伊藤浩介 (新潟大・脳研)

所内対応者：中村克樹

明らかな適応的意義の見当たらない音楽は、何故どのように進化したのだろうか。本研究は、従来の行動指標の代わり